

明 細 書

癌の検出方法

技術分野

- [0001] 本発明は、糖転移酵素をコードする遺伝子の特定領域の発現量を測定し、かかる測定値を癌の存否、進展、進行度、予後と関連づける癌の検出方法及び該方法を実施するための癌検出キットに関する。

背景技術

- [0002] 本明細書においては、N-アセチル-D-グルコサミンを「GlcNAc」と記載する。また、糖及び糖残基の表記に関しては、特記しない限りD体を示すものとする。

従来、癌の検出には各種腫瘍マーカーなどが指標として使用されていたが、その感度は必ずしも十分とは言えなかった。そこで、一般に腫瘍マーカーと呼ばれているもの以外に、遺伝子の発現の変化を癌検出に結びつける試みがなされている。特開2001-46077号公報及びLab. Invest., Vol.83, No.2(2003), 187-197には、 α 1,4結合でGlcNAcをムチン型糖鎖に転移する酵素及びそのDNAが開示されており、かかる遺伝子の発現が胃癌や膵癌で変化することに基づき癌検出法に応用する技術が開示されている。しかし、このような技術は、その感度は十分とは言えず、実用レベルとするにはさらなる検討が必要な状態であった。

発明の開示

- [0003] 上記課題を解決するために、本発明者等は鋭意検討した結果、上記の従来技術に開示された、特定の癌の検出に使用できる遺伝子と同一の遺伝子に由来するものの、当該従来技術よりも狭い領域の発現量の検出を行うことで、従来と比して癌検出感度が格段に増加することを見出し、本発明を完成した。

- [0004] すなわち、本発明は以下のとおりである。

(1) 生体から採取された体液中の α 1,4-N-アセチル-D-グルコサミン転移酵素遺伝子の発現量を測定し、該測定値と癌の存否、進展、進行度又は予後とを関連づける癌の検出方法であって、配列番号1記載の塩基配列における任意の連続した塩基数70〜139bpの塩基配列からなる領域を検出することによって前記遺伝子の発現量

を測定することを特徴とする、癌の検出方法。

(2) 前記領域が、配列番号1における塩基番号520～628の塩基配列からなる領域であることを特徴とする(1)の癌の検出方法。

(3) 体液が、血液又はリンパ液であることを特徴とする(1)又は(2)の癌の検出方法。

(4) 癌が、唾液腺癌、食道癌、胃癌、膵癌、胆嚢癌、小腸癌、大腸癌、及び直腸癌からなる群から選択される一以上の癌であることを特徴とする(1)～(3)のいずれかの癌の検出方法。

(5) 癌が、膵癌であることを特徴とする(1)～(3)のいずれかの癌の検出方法。

(6) 生体から採取された体液中の α 1, 4-N-アセチル-D-グルコサミン転移酵素遺伝子の発現量を測定し、該測定値と膵癌の進行度とを関連づける膵癌の進行度の判定方法であって、配列番号1記載の塩基配列における任意の連続した塩基数70～139bpの塩基配列からなる領域を検出することによって前記遺伝子の発現量を測定することを特徴とする、膵癌の進行度の判定方法。

(7) 前記領域が、配列番号1における塩基番号520～628の塩基配列からなる領域であることを特徴とする(6)の膵癌の進行度の判定方法。

(8) 体液が、血液又はリンパ液であることを特徴とする(6)又は(7)の膵癌の進行度の判定方法。

(9) 配列番号1記載の塩基配列における任意の連続した、塩基数70～139bpの塩基配列からなる領域を増幅するためのプライマーを含む、癌検出キット。

図面の簡単な説明

[0005] [図1]健常人(HV)、慢性膵炎患者(CP)、及び膵癌患者(PC)における α 4GnT遺伝子の発現量(縦軸)の分布を示す図である。星印は有意差が確認された組み合わせを示す。なお、*は $P=0.015$ 、**は $P=0.0046$ を表わす。

発明を実施するための最良の形態

[0006] 以下、本発明を発明の実施の形態により詳説する。

1. 本発明の検出方法

本発明の検出方法は、生体から採取された体液中の α 1, 4-N-アセチル-D-グ

ルコサミン転移酵素遺伝子の発現量を測定し、該測定値と癌の存否、進展、進行度又は予後とを関連づける癌の検出方法であって、配列番号1記載の塩基配列における任意の連続した塩基数70〜139bpの塩基配列からなる領域を検出することによって前記遺伝子の発現量を測定することを特徴とする、癌の検出方法である。

[0007] 本発明の検出方法における「体液」とは、唾液、血液、リンパ液、胃液、膵液、腸液が好ましく、特に血液及びリンパ液が好ましく、血液が最も好ましい。血液を「体液」として使用した場合には、血液から有核細胞成分を分画し、かかる画分から全RNAを抽出した後に逆転写酵素等を用いて常法に従ってcDNAを調製し、このcDNAを用いて定量を行うことが好ましい。

[0008] α 1,4-N-アセチル-D-グルコサミン転移酵素(以下、「 α 4GnT」とも記載する)遺伝子としては、例えば、配列番号1に記載の塩基配列を有する遺伝子が挙げられる。また、人種によって遺伝子に塩基置換が生じることも考えられるため、 α 4GnT遺伝子は、GlcNAc転移活性を有するタンパク質をコードする限り、配列番号1に記載の塩基配列を有するポリヌクレオチドとストリンジェントな条件下でハイブリダイズする遺伝子であってもよい。なお、ストリンジェントな条件としては、例えば、60℃、1×SSC、0.1%SDS、好ましくは、0.1×SSC、0.1%SDSに相当する塩濃度で、1回より好ましくは2〜3回洗浄する条件が挙げられる。

本発明の検出方法において、 α 4GnT遺伝子の発現量の測定は、配列番号1の塩基配列のうち、任意の連続した塩基数70〜139bpの領域を検出することによって行うことが好ましく、任意の連続した塩基数80〜129bpの領域を検出することによって行うことがより好ましく、任意の連続した塩基数90〜119bpの領域を検出することによって行うことが更に好ましく、任意の連続した塩基数100〜108bpの領域を検出することによって行うことが最も好ましい。本発明の検出方法に使用する、上記の領域としては、例えば配列番号1記載の塩基配列における塩基番号520〜628からなる領域が例示される。

[0009] 本発明検出方法における「 α 4GnT遺伝子の発現量の測定」とは、体液中に存在する細胞における α 4GnT遺伝子の発現量、すなわち、 α 4GnTのmRNAの量を測定することをいう。測定法として、具体的には、例えば、体液から常法により抽出された

mRNAまたはtotalRNAを用いてcDNAを合成した後に、ポリメラーゼ チェイン リアクション法(PCR法)などを用いて前記領域を増幅して検出する方法、または、前記領域に対応するプローブを使用して、DNAチップなどにより前記領域を検出する方法などが挙げられる。この中でもPCR法が好ましく、蛍光プローブを用いた定量PCR法を使用してもよい。ただし、これらに限定はされず、上記遺伝子の発現量の測定(定量)が可能な限り他の方法も使用することができる。

上記定量方法を用いて測定した生体から採取された体液における α 4GnT遺伝子の発現量と、癌の存否、進展、進行度又は予後とを関連づけることで、癌の検出を容易に行うことが可能である。

[0010] 本発明検出方法における「測定値と癌の存否、進展、進行度又は予後との関連づけ」とは、 α 4GnT遺伝子の発現量を、癌の有無、転移の有無、進行度、治癒の程度などの癌に関する定性的又は定量的な指標とすることを意味する。

また、上記関連付けにより健常な状態の測定値と比して測定値が変化した状態を意味し、例えば、「癌が存在する、進展している、癌がII期以上に進行している、又は癌が進展又は退縮しており予後が悪化或いは良好」と判定することができる。

ここで「測定値」とは、例えば、PCR法におけるDNAの複製数またはハイブリダイズ法におけるハイブリダイズしたDNAの量などの絶対量であってもよいが、これに限らず、例えば内部標準を設け、内部標準との比を測定値として使用しても良い。内部標準としては一般的に用いられているグリセルアルデヒド三リン酸デヒドロゲナーゼ(以下「GAPDH」とも記載する)の遺伝子を用いることができる。

[0011] 本発明検出方法における「変化」とは、測定値の「増加」であることが好ましい。健常人における α 4GnT遺伝子とGAPDH遺伝子の発現量の比(α 4GnT遺伝子の測定値/GAPDH遺伝子の測定値)は 12×10^{-7} 未満となるため、この値がかかる比の値(12×10^{-7})(臨界値)よりも高い場合に「癌が存在する」とすることができる。かかる臨界値は検出感度など必要に応じて調整することが可能である。また、例えば同一患者の異なる時点のサンプルを比較して、上記比の値が大きくなっている場合に癌が進展(進行)し、減少している場合に癌が治癒に向かっている、予後が悪化或いは良好などとすることも可能である。

[0012] 本発明検出方法で検出される「癌」は、消化器及びその付随器官の「癌」であることが好ましく、特に唾液腺癌、食道癌、胃癌、膵癌、胆嚢癌、小腸癌、大腸癌、直腸癌のいずれかであることが好ましい。この中でも特に胃癌、膵癌、小腸癌、大腸癌であることが好ましく、特に胃癌、膵癌であることが好ましく、膵癌であることが極めて好ましい。

[0013] ところで、従来癌の検出に用いられていた癌胎児抗原(以下「CEA」とも記載する)やシアリルルイスA(以下、「CA19-9」とも記載する)等の癌マーカーは、早期癌(II期以前)の検出には不向きで、早期癌の検出は、これらの癌マーカーと血清エラスターゼの測定との併用でスクリーニングを行っていた。

しかし、本発明検出方法はII期の癌においても極めて優れた検出感度を示すことが明かであり、本発明検出方法単独の実施で早期の癌の検出が可能である。

このことから、本発明検出方法は早期癌(II期)の検出に極めて有用であることが明かとなり、早期癌の検出方法に使用することも可能である。

[0014] 更に、特に膵癌の患者において、本発明の検出方法による測定で、II期、III期、IV期の癌の進行時期毎に測定値が変化することが明かとなり、かかる変化に基づき、本発明検出方法を膵癌の進行度を判定する方法として使用することも可能であることが明かとなった。すなわち体液、特に好ましくは末梢血を用いて、 α 4GnT遺伝子と内部標準遺伝子としてのGAPDH遺伝子の発現量を測定し、これらの比を 10^7 倍した値を算出した場合に、測定値が例えば35以上の場合をIV期、15～35の場合をIII期、13～15の場合をII期とすることが可能である。かかる比の数値範囲(臨界値)は必要に応じて適宜調整することが可能である。

[0015] なお、一般的に臨床において膵炎と膵癌の鑑別診断は困難であることが知られているが、本発明検出方法を用いると、膵炎患者と膵癌(癌)患者との間では明らかに測定値が相違するため、本発明検出方法は膵炎と膵癌との鑑別に用いることも可能である。

[0016] 2. 本発明キット

本発明キットは、配列番号1記載の塩基配列における任意の連続した、塩基数70～139bpの核酸(ポリヌクレオチド)を増幅するためのプライマーを含む、癌検出キット

である。プライマーの長さは上記核酸を増幅できる長さであれば特に制限されないが、例えば、20ー26塩基が好ましく、22ー25塩基がより好ましい。

本発明キットは、本発明の検出方法を実施するためのキットである。

本発明キットにおける「塩基数70ー139bpの核酸」は、配列番号1記載の核酸の一部であって連続した塩基数70ー139bpからなる核酸である限りにおいて特に限定はされないが、その中でも特に配列番号1における塩基番号520ー628からなる塩基配列の核酸であることが好ましい。

[0017] 本発明キットにおける「プライマー」は、上記「塩基数70ー139bp」の塩基配列を増幅することができる限りにおいて特に限定はされないが、例えば上記好ましい例の一つである「配列番号1における塩基番号520ー628からなる塩基配列の核酸」を増幅するためのプライマーとしては配列番号3の5'プライマー及び配列番号4の3'プライマーが挙げられる。

[0018] 本発明キットは、上記「プライマー」以外に、かかるプライマーを用いて増幅して得られる増幅産物を検出するためのプローブ（例えば配列番号5記載の塩基配列からなるDNA）、逆転写酵素やDNAポリメラーゼなどの試薬、測定値を入力すると疾病の検出結果を表示するソフトウェアなどを更に含んでいても良い。

実施例

[0019] 以下、本発明を実施例により具体的に説明する。

実施例1

インフォームドコンセントの得られた膵癌患者55名（総合的な診断により膵癌と診断された患者）、慢性膵炎患者10名（総合的な診断により慢性膵炎と診断された患者）及び健常人70名について、採取した5mlの末梢血から有核細胞成分を分画し、常法に従って全RNAを抽出して、DNaseI（アンビオン社製）2Uを添加した後、逆転写酵素（インビトロゲン社製）200Uを加えて55分間インキュベートしてcDNAの合成を行った。

[0020] かかるcDNAと、配列番号3の5'プライマー、配列番号4の3'プライマー、及び配列番号5のプローブ（TaqManプローブ：蛍光色素（5'-FAM）とクエンチャー（3'-TAMURA）とが結合している（アプライドバイオシステムズジャパン社製））を用いて

Quantative-PCR法をABI PRISM 7700(アプライドバイオシステムズジャパン社製)で行なった。

- [0021] 定量は上記プライマー及びプローブを用いて増幅される α 4GnT遺伝子の一部分と共に内部標準遺伝子としてグリセルアルデヒド-三リン酸デヒドロゲナーゼ(以下「GAPDH」とも記載する)のcDNAも増幅して測定を行うmultiplex PCR法によって行い、「 α 4GnTの増幅産物のコピー数/GAPDHのコピー数」を 10^7 倍した数値を「 α 4GnTの発現量」と定義づけた(以下単に「発現量」と記載する)。
- [0022] 上記発現量を用いてreceiver operating characteristics curveを作成したところ、膵癌患者群と健常人群とがカット・オフ値12で明確に区別されることが明かとなった。そこで、12以下を健常人、それよりも高値の者を膵癌の疑いのある群として、分析を行なった。
- [0023] その結果、膵癌患者群全体の陽性率は76.4であり、その発現量は 35.7 ± 4.9 であった。更に膵癌における各病期別の陽性患者数は、0期(癌細胞が上皮内に限局している状態(上皮内癌))0/1例(0%)、II期 2/3例(66.7%)、III期 6/8例(75.0%)、IV期 34/43(79.1%)であり、また発現量はII期 24.8 ± 12.5 、III期 29.9 ± 9.2 、IV期 38.3 ± 5.9 と、病期の進行と共に増加の傾向にあった(表1)。また、同時に血清中のCEA及びCA19-9も測定し、膵癌患者群全体ではそれぞれ44.4%、74.6%が陽性となったが、II期膵癌患者ではCEA及びCA19-9のいずれの方法でも陰性となった(表1)。このことから、従来の膵癌マーカーによる膵癌の検出と比して、本発明検出方法を用いるとより早期に膵癌を検出できることが明かとなった。

- [0024] [表1]

表 1

病期	発現量	CEA (>2.5ng. ml)	CA19-9 (>37U/ml)
0	0/1 (0%)	0/1 (0%)	0/1 (0%)
II	2/3 (66.7%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)
III	6/8 (75.0%)	3/8 (37.5%)	6/8 (75.0%)
IV	34/43 (79.1%)	21/42 (50.0%)	34/42 (80.9%)
Total	42/55 (76.4%)	24/54 (44.4%)	40/54 (74.6%)

[0025] 一方、膵内における腫瘍の占拠部位別の検討を行ったところ、膵頭部癌と膵体尾部癌の両群間で有意な差は見られなかった。また更に、切除可能な膵癌症例24例に対する病理組織学的な検討では、発現量と、脈管侵襲の有無、リンパ節転移の有無及び癌細胞の分化度との間にいずれも有意な差は認められなかった。

[0026] 健常人における発現量は 7.2 ± 0.9 であり、膵癌患者に比較して有意に低値であった(Bonferroni検定によると $P=0.0046$)。また慢性膵炎患者群における発現量は 17.8 ± 6.9 であり、膵癌に比較して有意に低値であった(Bonferroni検定によると $P=0.015$) (図1)。従って、本発明検出方法により、膵癌の検出を行うことができると共に、膵癌と慢性膵炎との鑑別診断を行うことができることが判明した。

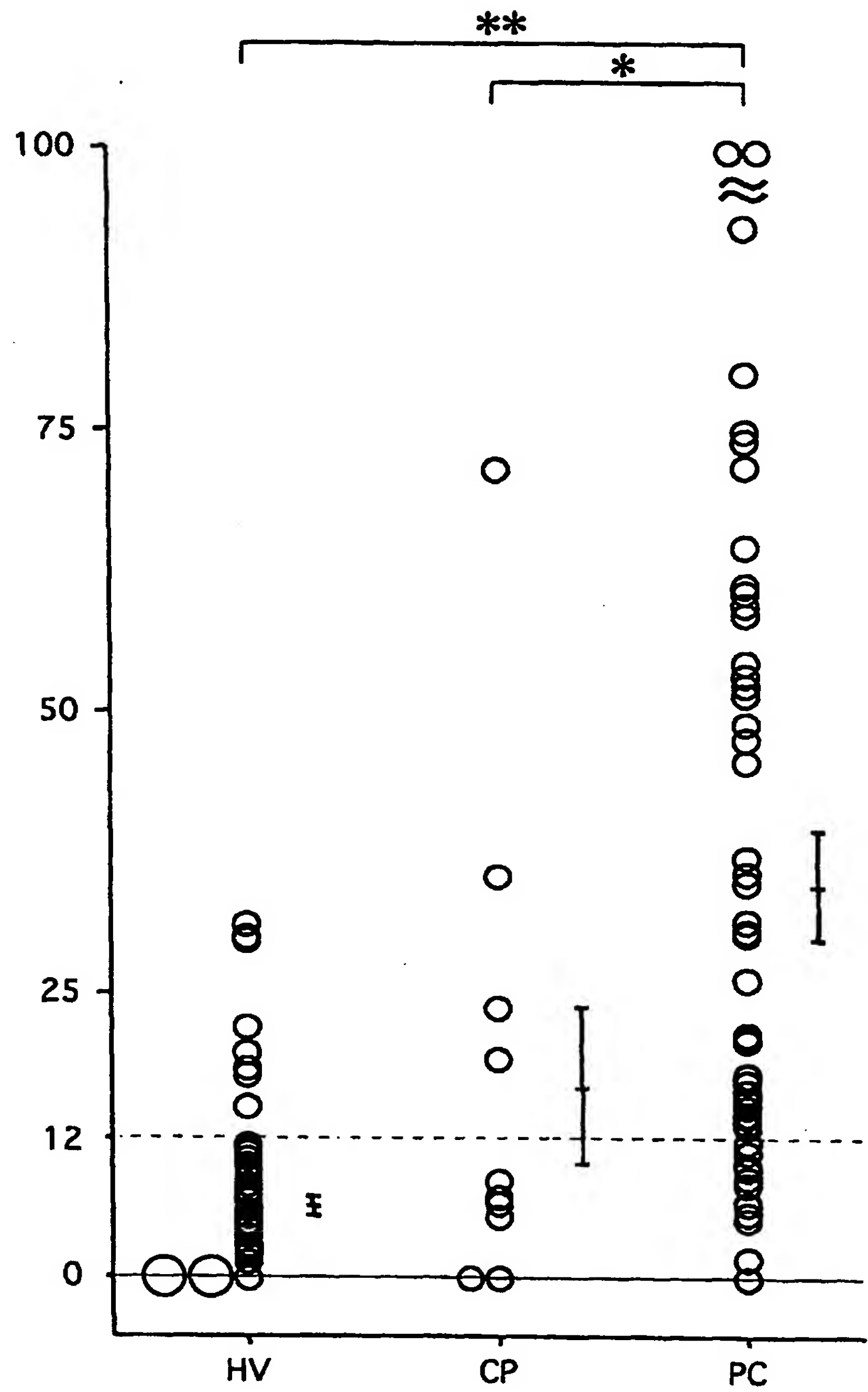
産業上の利用の可能性

[0027] 本発明により、新たな癌検出方法、膵癌の進行度を検出する方法、及び癌検出キットが提供される。

請求の範囲

- [1] 生体から採取された体液中の α 1, 4-N-アセチル-D-グルコサミン転移酵素遺伝子の発現量を測定し、該測定値と癌の存否、進展、進行度又は予後とを関連づける癌の検出方法であって、配列番号1記載の塩基配列における任意の連続した塩基数70〜139bpの塩基配列からなる領域を検出することによって前記遺伝子の発現量を測定することを特徴とする、癌の検出方法。
- [2] 前記領域が、配列番号1における塩基番号520〜628の塩基配列からなる領域であることを特徴とする請求項1記載の癌の検出方法。
- [3] 体液が、血液又はリンパ液であることを特徴とする請求項1又は2に記載の癌の検出方法。
- [4] 癌が、唾液腺癌、食道癌、胃癌、膵癌、胆嚢癌、小腸癌、大腸癌、及び直腸癌からなる群から選択される一以上の癌であることを特徴とする請求項1〜3のいずれか一項記載の癌の検出方法。
- [5] 癌が、膵癌であることを特徴とする請求項1〜3のいずれか一項記載の癌の検出方法。
- [6] 生体から採取された体液中の α 1, 4-N-アセチル-D-グルコサミン転移酵素遺伝子の発現量を測定し、該測定値と膵癌の進行度とを関連づける膵癌の進行度の判定方法であって、配列番号1記載の塩基配列における任意の連続した塩基数70〜139bpの塩基配列からなる領域を検出することによって前記遺伝子の発現量を測定することを特徴とする、膵癌の進行度の判定方法。
- [7] 前記領域が、配列番号1における塩基番号520〜628の塩基配列からなる領域であることを特徴とする請求項6に記載の膵癌の進行度の判定方法。
- [8] 体液が、血液又はリンパ液であることを特徴とする請求項6又は7に記載の膵癌の進行度の判定方法。
- [9] 配列番号1記載の塩基配列における任意の連続した、塩基数70〜139bpの塩基配列からなる領域を増幅するためのプライマーを含む、癌検出キット。

[図1]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/009126

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12N15/09, C12Q1/68, G01N33/50

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12N15/09, C12Q1/68, G01N33/50

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

MEDLINE, CAPLUS, BIOSIS, WPIDS (STN), JSTPLUS (JOIS),
SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
<u>X</u> Y	JP 2001-46077 A (Seikagaku Corp.), 20 February, 2001 (20.02.01), <5> column of "Detecting Method"; examples; sequence listing (Family: none)	<u>1-5, 9</u> 6-8
Y	SHIMIZU, F. et al., "Usefulness of the Real- Time Reverse Transcription-Polymerase Chain reaction Assay Targeted to alpha 1,4-N- Acetylglucosaminyl transferase for the Detection of Grstic Cancer", LABORATORY INVESTIGATION, (2003.February), Vol.83, No.2, pages 187 to 197, full text	1-4, 6-9

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
05 August, 2004 (05.08.04)

Date of mailing of the international search report
24 August, 2004 (24.08.04)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/009126

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	NAKAYAMA, J. et al., "Expression cloning of a human alpha 1,4-N-Acetylglucosaminyltransferase that forms GlcNAc alpha1-4Gal beta-R, a glycan specifically expressed in the gastric gland mucous cell-type mucin", Proc.Natl. Acad.Sci.USA, (1999), Vol.96, pages 8991 to 8996, full text	1-4,9
A	WO 02/68579 A2 (PE CORP.), 06 September, 2002 (06.09.02), Full text; SEQ.ID Nos:1110 (Family: none)	1-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/009126

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.b of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:

a. type of material



a sequence listing



table(s) related to the sequence listing

b. format of material



in written format



in computer readable form

c. time of filing/furnishing



contained in the international application as filed



filed together with the international application in computer readable form



furnished subsequently to this Authority for the purposes of search

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))			
Int.Cl. ⁷ C12N 15/09, C12Q 1/68, G01N 33/50			
B. 調査を行った分野			
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))			
Int.Cl. ⁷ C12N 15/09, C12Q 1/68, G01N 33/50			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの			
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) MEDLINE, CAPLUS, BIOSIS, WPIDS(STN), JSTPLUS(JOIS) SwissProt/PIR/GeneSeq Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示		関連する 請求の範囲の番号
X	JP 2001-46077 A, (生化学工業株式会社), 2001.02.20, <5>本発明検出法欄, 実施例, 配列表		1-5, 9
Y	(ファミリーなし)		6-8
Y	SHIMIZU, F. et al., "Usefulness of the Real-Time Reverse Transcription- Polymerase Chain reaction Assay Targeted to alpha 1,4-N- Acetylglucosaminyltransferase for the Detection of Grstric Cancer", LABORATORY INVESTIGATION, (2003.Feb), Vol.83, No.2, pp.187-197, 全文		1-4, 6-9
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー			
「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの		「T」 の日の後に公表された文献	
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの		「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの	
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)		「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの	
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの	
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		「&」 同一パテントファミリー文献	
国際調査を完了した日 05.08.2004		国際調査報告の発送日 24.8.2004	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 田中 晴絵	4B 3334
		電話番号 03-3581-1101 内線 3448	

第 I 欄 ヌクレオチド又はアミノ酸配列 (第 1 ページの 1. b の続き)

1. この国際出願で開示されかつ請求の範囲に係る発明に必要なヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下に基づき国際調査を行った。

a. タイプ ☒ 配列表

☐ 配列表に関連するテーブル

b. フォーマット ☐ 書面

☒ コンピュータ読み取り可能な形式

c. 提出時期 ☐ 出願時の国際出願に含まれる

☒ この国際出願と共にコンピュータ読み取り可能な形式により提出された

☐ 出願後に、調査のために、この国際調査機関に提出された

2. ☐ さらに、配列表又は配列表に関連するテーブルを提出した場合に、出願後に提出した配列若しくは追加して提出した配列が出願時に提出した配列と同一である旨、又は、出願時の開示を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見：

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	NAKAYAMA, J.; et al., "Expression cloning of a human alpha 1,4-N-Acetylglucosaminyltransferase that forms GlcNAc alpha1→4Gal beta→R, a glycan specifically expressed in the gastric gland mucous cell-type mucin" Proc. Natl. Acad. Sci. USA, (1999), Vol. 96, pp. 8991-8996, 全文	1-4, 9
A	WO 02/68579 A2, (PE CORP.), 2002.09.06, 全文, SEQ. ID NOS:1110, (ファミリーなし)	1-9